Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik,
Klinik A, der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. W. Schneider)

DIE ERYTHROCYTÄRE PYRIMIDIN 5'-NUCLEOTIDASE IM NABELSCHNURBLUT UND BEI RENALER ANÄMIE

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Ingrid Och

1983

UNIV.
LEEDS
LIBR.

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik,
Klinik A, der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. W. Schneider)

DIE ERYTHROCYTÄRE PYRIMIDIN 5'-NUCLEOTIDASE IM NABELSCHNURBLUT UND BEI RENALER ANÄMIE

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Ingrid Och
1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medzinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Brüster

Referent
gez.: Prof. Dr. Schneider

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Brüster

VERWANDTE ABKÜRZUNGEN

NSHA	nichtsphärocytäre hämolytische Anämie
UMP	Uridin-5'-Monophosphat
CMP	Cytidin-5'-Monophosphat
P5'N	Pyrimidin 5'-Nucleotidase
RNA	Ribonucleinsäure
G6PD	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
PK	Pyruvatkinase
GSH	Glutathion
AMP	Adenosin-5'-Monophosphat
ADP	Adenosin-5'-Diphosphat
ATP	Adenosin-5'-Triphosphat
NADP	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
$NADPH_2$	NADPH + H^+, reduziertes NADP
ALA-Dehydrogenase	Delta-Aminolävulinsäure-Dehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
PFK	Phosphofructokinase
MCV	mittleres corpusculäres Erythrocytenvolumen
MCH	= Hb_E, mittleres corpusculäres Hämoglobin

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543909_0065

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1. EINLEITUNG 1
   1.1. Die Pyrimidin 5'-Nucleotidase 1
   1.2. Fragestellung der Untersuchung 7

2. MATERIAL UND METHODE 8
   2.1. Untersuchte Kollektive 8
   2.2. Methode 8
   2.2.1. Material 8
   2.2.2. Herstellung des Hämolysates 9
   2.2.3. Messung der P5'N-Aktivität 9

3. ERGEBNISSE 11
   3.1. Ergebnisse der Kontrollgruppe 11
   3.2. Ergebnisse im Nabelschnurblut 11
   3.3. Ergebnisse bei Patienten mit Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention 11
   3.4. Ergebnisse bei Dialysepatienten 12

4. DISKUSSION 18
   4.1. Werte der P5'N in der Literatur 18
   4.2. Werte im Nabelschnurblut 21
   4.3. Werte bei Niereninsuffizienz 24

5. ZUSAMMENFASSUNG 30

6. LITERATURVERZEICHNIS 31

1. E I N L E I T U N G

1.1. Die Pyrimidin 5'-Nucleotidase

Im Jahre 1974 beschrieben VALENTINE et al. erstmals eine nichtsphärocytäre hämolytische Anämie (NSHA), die auf dem Mangel an Pyrimidin-spezifischer 5'-Nucleotidase in den Erythrocyten beruht.
Im Gegensatz zu den übrigen in menschlichen Geweben und Sekreten vorhandenen 5'-Nucleotidasen reagiert sie nur mit den Pyrimidin-, nicht jedoch mit den Purin-5'-Ribonucleotiden (PAGLIA und VALENTINE 1975a). Sie katalysiert die Reaktion

CMP ——————> Cytidin + Phosphat bzw.
UMP ——————> Uridin + Phosphat

und überführt so die unlöslichen RNA-Abbauprodukte CMP und UMP in eine lösliche Form, die ihre Diffusion aus dem Erythrocyten ermöglicht (VALENTINE 1975). Die Evolution einer P5'N erscheint als sinnvolle Anpassung an die metabolischen Besonderheiten des kernlosen Erythrocyten: da er zu einer de novo-Synthese von Nucleotiden nicht in der Lage ist, würde ein Enzym, das durch seine Aktivität zu einer Verringerung des Adenin-Nucleotid-Pools führt, den Energiestoffwechsel, der ganz auf der Gewinnung energiereicher Phosphate durch Glykolyse beruht, negativ beeinflussen (PAGLIA und VALENTINE 1975a). Andererseits müssen die Pyrimidin-Nucleotide während seiner Reifung aus dem Erythrocyten entfernt werden, da ihre Anhäufung, wie der erbliche Mangel an P5'N zeigt, ebenfalls zu Störungen des Stoffwechsels und frühzeitiger Hämolyse führt.

Seit der Erstbeschreibung wurden von mehreren anderen Autoren ebenfalls das klinische Bild und die hämatologischen und biochemischen Charakteristika dieser Erythroenzymopathie geschildert (VIVES-CORRONS et al. 1976, BEN BASSAT et al. 1976, ROSA et al. 1977a, TORRANCE et al.

1977c, MIWA et al. 1977, BUC et al. 1979, ODA und TANAKA 1979, BEUTLER et al. 1980, PAGLIA et al. 1980, OZSOYLU und GURGEY 1981, TOMODA et al. 1982). Die Diagnose einer chronischen NSHA wurde meist im Kindes- oder frühen Erwachsenenalter gestellt, ein Neugeborenenikterus trat nur in wenigen Fällen (BEUTLER et al. 1980) auf. Ein ständiger oder auch nur episodisch auftretender Ikterus, der durch Belastungen des Körpers wie z.B. Infektionen oder Schwangerschaft begünstigt werden kann, und eine Splenomegalie wurden bei allen Patienten beobachtet. Die überzufällig häufige Koinzidenz einer geistigen bzw. psychomotorischen Retardierung wurde von BEUTLER et al. (1980) und TORRANCE et al. (1977c) bei mehreren Patienten beschrieben. Die körperliche Entwicklungsverzögerung eines Patienten konnte ebenso wie die Anämie durch eine im Alter von 14 Jahren durchgeführte Splenektomie gebessert werden (OZSOYLU und GURGEY 1981). Von allen anderen Autoren wird der Splenektomie keine oder allenfalls eine geringe und vorübergehende positive Wirkung zugeschrieben. Bis auf wenige Ausnahmen erreicht die Anämie nicht das Ausmaß, das Transfusionen erfordern würde.

Die Ergebnisse hämatologischer Untersuchungen sind neben den Zeichen einer chronischen hämolytischen Anämie - wie Erniedrigung von Hämatokrit, Hämoglobin und Erythrocytenzahl, Retikulocytose (bis 25%), Erhöhung des indirekten Bilirubins, Erniedrigung des Serum-Haptoglobins, Verkürzung der Erythrocytenlebenszeit auf T 1/2 von ca. 20 Tagen - eine Makrocytose, Aniso-Poikilocytose und als auffälligstes Merkmal eine Erhöhung der Anzahl basophil getüpfelter Erythrocyten. Dies wird üblicherweise als Ausdruck einer gesteigerten und überstürzten regenerativen Tätigkeit des erythropoetischen Systems gewertet und bei einer ganzen Anzahl chronischer Krankheiten, als pathognomonisches Zeichen jedoch bei Bleivergiftungen beobachtet (KESSLER 1959). Das morphologische Substrat ist die

Aggregation nicht oder nur unvollständig abgebauter RNA und Ribosomen (JENSEN et al. 1965, ALBAHARY 1972). Tatsächlich fand man in den Erythrocyten einen auf das 3-6fache erhöhten Gesamtnucleotidgehalt und ein gegenüber der Norm verschobenes Verteilungsmuster (SCHOLAR et al. 1973): die Pyrimidin-Nucleotide sind von unter 1% auf 48% (MIWA et al. 1977), nach VALENTINE und PAGLIA (1977) auf 80% erhöht; TORRANCE und WHITTACKER (1979) beschreiben das Auftreten von mindestens acht normalerweise in Erythrocyten nicht nachweisbaren Nucleotiden. Bei der Spektralanalyse von Perchlorsäure-Extrakten roter Blutzellen führt diese Erhöhung der Pyrimidin-Nucleotide zu einer Verschiebung des Maximums der UV-Absorption von üblicherweise 256-260 nm nach 266-270 nm (VALENTINE et al. 1974). Dieses einfache Verfahren wurde deshalb als Screening-Test in der Diagnostik NSHA empfohlen (VALENTINE und PAGLIA 1977), zumal der P5'N-Mangel nach dem G6PD-Mangel und dem PK-Mangel die häufigste Erythroenzymopathie zu sein scheint (BEUTLER 1979).

Die Hemmung des letzten Schrittes führt zu einer Anhäufung aller Zwischenprodukte des RNA-Abbaus. Nach Berechnungen von HARLEY (1978) müßte aber bei der verbliebenen Restaktivität der P5'N das gesamte RNA-Material innerhalb weniger Tage abgebaut sein. Er vermutet deshalb und belegt durch Untersuchungen die Existenz eines aktiven Pyrimidin-Stoffwechsels auch im reifen Erythrocyten: aus Orotat werden mit Hilfe der Orotat-phosphoribosyl-Transferase (OPRT) und der Orotidylat-Decarboxylase (ODC) Pyrimidine gebildet, aus Uridin mittels Uridylkinase UMP. Der quantitative Beitrag dieser Synthesewege zum erhöhten Nucleotid-Spiegel ist noch unklar.

Die biochemischen Untersuchungen ergaben normale bzw. erhöhte, der Verjüngung der Erythrocytenpopulation entsprechende Werte (BROK et al. 1966, CHAPMAN und SCHAUMBURG 1967) für die glykolytischen Enzyme und ihre Meta-

bolite (BUC et al. 1979, BEUTLER et al. 1980). Die Aktivität der P5'N ist unter 10% der Norm erniedrigt. Die Erhöhung des GSH-Gehaltes der Erythrocyten und die verminderte Aktivität der Ribosephosphat-pyrophosphokinase (RPK) werden als Epiphänomene ohne kausalen Zusammenhang mit der Hämolyse angesehen (VALENTINE et al. 1974).
Die genauen Mechanismen, welche zur Hämolyse führen, sind komplex und bisher unbekannt. VALENTINE et al. (1974) vermuten eine Kompetition der Pyrimidinnucleotide mit ADP und ATP, den Coenzymen zahlreicher enzymatischer Reaktionen wie der Hexokinase-, Pyruvatkinase- und Phosphoglyceratkinase-Reaktion. Untersuchungen von TOMODA et al. (1982) an intakten Erythrocyten zeigen neben einer Erniedrigung des intrazellulären pH-Wertes eine der Konzentration der Pyrimidinnucleotide proportionale Herabsetzung der Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und in gleichem Ausmaß des Pentosephosphat-Zyklus. Dies könnte über die Verringerung von $NADPH_2$, des Coenzyms von Oxydoreduktasen, zur erhöhten Anfälligkeit des Erythrocyten gegenüber oxidativen Noxen führen.
Enzymkinetische Untersuchungen zeigten mit UMP eine 20-30% größere Aktivität der P5'N und eine höhere Maximalgeschwindigkeit als mit CMP (VALENTINE et al. 1974). Das pH-Optimum wurde mit 7,5-8,0 angegeben, ein Jahr später von derselben Forschergruppe mit 7,0-7,5; TORRANCE und WHITTACKER (1981) ermittelten einen Wert von 6,75 für UMP und von 7,2 für CMP.
Das Enzym hat eine Michaeliskonstante für UMP von 0,33 mM, für CMP von 0,15 mM. Zu seiner optimalen Aktivität bedarf es einer Mg^{2+}-Konzentration von 10 mM. Es reagiert nicht mit Purin-5'-Nucleotiden und mit den 2'-, 3'- und cyclischen Isomeren der Pyrimidinnucleotide; die 2'-desoxy-Analogen Desoxyuridin-5'-monophosphat und Desoxycytidin-5'-monophosphat werden dagegen umgesetzt (PAGLIA und VALENTINE 1975a). AMP, Purin- und Pyrimidinnucleoside sowie

die freien Basen besitzen eine inhibitorische Wirkung, die am stärksten bei den Reaktionsprodukten Cytidin bzw. Uridin und anorganisches Phosphat ausgeprägt ist.
Die Aktivität der P5'N wird durch Schwermetallionen, besonders durch Hg^{2+}, Pb^{2+} und Cd^{2+} gehemmt. Das Enzym ist gegenüber Hitze außerordentlich empfindlich, schon bei Temperaturen um 45°C über 30 Minuten erfolgt eine nahezu vollständige Inaktivierung. Es handelt sich um ein im Cytoplasma gelöstes Enzym (PAGLIA und VALENTINE 1975a, BONINSEGNA et al. 1974, TORRANCE und WHITTACKER 1981) mit einem Molekulargewicht von 28000 (TORRANCE et al. 1977b). Wie viele andere Enzyme auch zeigt die P5'N-Aktivität eine Abhängigkeit vom Alter des Erythrocyten: die jüngsten Erythrocyten besitzen eine um das mehrfach höhere Aktivität als die älteren Formen (TORRANCE et al. 1980).

Der P5'N-Mangel wird autosomal rezessiv vererbt. Heterozygote Merkmalsträger sind klinisch und hämatologisch symptomlos. Die Werte der P5'N-Aktivität sind bei einigen unter ihnen auf 40-60% der Norm erniedrigt, bei anderen befinden sie sich im unteren Normbereich (TORRANCE et al. 1977c). Da es nicht zur Akkumulation von Pyrimidinnucleotiden kommt und die Spektralanalyse deproteinisierter Erythrocytenextrakte deshalb normale Ergebnisse erbringt, gibt es bislang kein Verfahren, das es gestattet, heterozygote Merkmalsträger zweifelsfrei zu identifizieren (TORRANCE und WHITTACKER 1979).
Die Ergebnisse elektrophoretischer und kinetischer Untersuchungen des Enzyms Erkrankter weisen auf eine strukturelle Enzymalteration hin (ROSA et al. 1977a, SHINOHARA und TANAKA 1979, FUJII et al. 1979a, ISHIDA et al. 1980, MIWA 1981). Da sich die Eigenschaften der mutierten Enzyme verschiedener Patienten auch untereinander unterscheiden, besteht wahrscheinlich wie bei anderen Erythroenzymopathien auch eine genetische Heterogenität.
Die basophile Tüpfelung der Erythrocyten, die ein gemein-

sames Merkmal des erblichen P5'N-Mangels und der chronischen Bleivergiftung ist, sowie die Beobachtung, daß Bleiionen in vitro die Aktivität der P5'N hemmen, führten zu der Vermutung, daß zu den Wirkungen des Bleis auf das erythropoetische System nicht nur die Störung der Hämsynthese sondern auch des RNA-Abbaus zählt.
Es besteht zwar keine enge Korrelation, aber mit steigendem Blut-Bleispiegel nimmt die Aktivität der P5'N kontinuierlich ab, wie Untersuchungen bleiexponierter Personen zeigten (PAGLIA et al. 1975b und 1977, VALENTINE et al. 1976, ANGLE und MCINTIRE 1978). Bei Blut-Bleispiegeln über 200 µg/dl Erythrocyten wurden Restaktivitäten von ca. 10%, die dem homozygoten Status des genetischen P5'N-Mangels entsprechen, gemessen, die Anämie verlief jedoch milder. BUC und KAPLAN (1978b) halten den Abfall der P5'N-Aktivität für einen sensitiveren und spezifischeren Parameter der Bleiintoxikation als den der ALA-Dehydrogenase-Aktivität. Von FUJII (1979b) konnte diese Auffassung nicht bestätigt werden, sodaß der diagnostische Wert der P5'N-Bestimmung in der Überwachung beruflich bleiexponierter Personen umstritten bleibt.
Die Beobachtungen an Bleivergifteten, die Ergebnisse von Tierversuchen (GEORGE und DUNCAN 1982, TOMOKUMI und OGATA 1980, ROCCO et al. 1981) und von in vitro-Untersuchungen zeigen, daß der erworbene P5'N-Mangel einer von mehreren pathogenetischen Mechanismen in der Genese bleiinduzierter Anämien ist.

1.2. Fragestellung der Untersuchung

Es interessierte das Verhalten der Pyrimidin 5'-Nucleotidase im Nabelschnurblut und bei renaler Anämie, da sowohl fetale wie urämisch geschädigte Erythrocyten gegenüber gesunden adulten roten Blutzellen eine verkürzte Lebenszeit und Abweichungen in der Aktivität einzelner Enzyme aufweisen.

2. MATERIAL UND METHODE

2.1. Untersuchte Kollektive

Das Normalkollektiv (Gruppe 1) bestand aus 17 gesunden Mitarbeitern der Medizinischen Universitätsklinik Düsseldorf.
Das Nabelschnurblut (Gruppe 2) stammt von 25 gesunden reifen Neugeborenen, die in der Universitäts-Frauenklinik nach unauffälligem Schwangerschaftsverlauf zur Welt kamen.
Gruppe 3 umfaßt 8 chronisch niereninsuffiziente Patienten im Stadium der kompensierten Retention, die sich in der Medizinischen Klinik A der Universität in stationärer Behandlung befanden.
In Gruppe 4 wurden 14 Patienten mit chronischer terminaler Niereninsuffizienz aufgenommen, die im Dialysezentrum der Klinik A der Medizinischen Universitätsklinik (n=4) und im Heimdialysezentrum am Evangelischen Krankenhaus Düsseldorf (n=10) intermittierend hämodialysiert wurden. Die Blutentnahme erfolgte vor Dialysebeginn.

2.2. Methode

2.2.1. Material

Das Material wurde von folgenden Firmen bezogen:
Cytidin-5'-Monophosphat, Dinatriumsalz (Best.-Nr. 103730): Fa. Boehringer, Mannheim
$ZnSO_4$ (Best.-Nr. 8883), $Ba(OH)_2$ (Best.-Nr. 1737) und Tris-hydroxymethyl-amino-methan (Best.-Nr. 8382): Fa. Merck, Darmstadt
Quickszint 212, ein phasenfreier Scintillator für wäßriges Probenmaterial: Koch-Light Laboratories Ltd. (Best.-

Nr. 100 7600)
[5-^{3}H]-Cytidin-5'-Monophosphat, Ammoniumsalz mit einer spezifischen Aktivität von 17 Ci/mMol: Amersham Buchler, Braunschweig (Best.-Nr. 85392)

2.2.2. Herstellung des Hämolysates

Blut wurde mit 3,8%iger Na-Citratlösung im Verhältnis 9+1 antikoaguliert und bis zur Bearbeitung bei 4°C aufbewahrt. Anschließend wurde es bei 2000 g 15 Minuten zentrifugiert, Plasma und "Buffy-coat" wurden abgehoben und die Erythrocyten dreimal mit eiskalter 0,9%iger NaCl-Lösung gewaschen. Die gewaschenen Erythrocyten wurden etwa im Verhältnis 1:1 in NaCl-Lösung suspendiert, die Hämolyse erfolgte durch Einfrieren bei -20°C.
Das Hämoglobin wurde nach der Hämiglobincyanid-Methode mit Hilfe des Hämoglobin-Farbtestes der Fa. Boehringer, Mannheim bestimmt.

2.2.3. Messung der P5'N-Aktivität

Die Bestimmung erfolgte nach der von TORRANCE et al. (1977a) entwickelten Methode, modifiziert nach LIEBERMAN und GORDON-SMITH (1980).
0,1 ml Hämolysat, das etwa 18 mg Hb enthielt, wurde mit 5 mmol CMP, 4,2 mmol $MgCl_2$, 16,7 mmol Tris-HCl-Puffer, pH 8,0 und 0,25 µCi [5-^{3}H]-Cytidin-5'-Monophosphat in einem Volumen von 0,6 ml bei 37°C 90 Minuten inkubiert. Die Reaktion wurde beendet durch Eintauchen der Reagenzgläser in Eiswasser. Sofort anschließend wurden 0,25 ml 0,25 M $ZnSO_4$-Lösung zugegeben und gut gemischt. Nach Hinzufügen von 0,25 ml 0,25 M $Ba(OH)_2$-Lösung und erneutem guten Mischen verblieben die Reagenzgläser 10 Minuten im

Eiswasser, um die Präzipitation des entstehenden $BaSO_4$ mit dem daran adsorbierten CMP und [5-^{3}H]CMP und die Ausfällung der Eiweiße stattfinden zu lassen. Danach wurden die Ansätze 10 Minuten bei 4°C und 1500 g zentrifugiert.

Um die Menge des gebildeten Cytidins zu bestimmen, wurde die Radioaktivität im Überstand gemessen, die nur vom freigesetzten [5-^{3}H]-Cytidin stammt. Dazu wurden 0,5 ml des Überstandes zu 10 ml Szintillationslösung gegeben. Die Messung erfolgte in dem Mikroprozessor-gesteuerten Flüssigkeits-Szintillationszähler LS 9000 der Firma Beckman.

Der Leerwert wurde durch Zugabe des Enzyms unmittelbar nach dem Ende der Inkubationszeit bestimmt. Bei den angegebenen Werten handelt es sich um den Mittelwert aus Dreifachbestimmungen, sie werden in der Einheit µMol Cytidin/h/g Hb angegeben.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Mann-Whitney-Testes für nichtparametrische Verteilungsfunktionen.

3. E R G E B N I S S E

3.1. Ergebnisse der Kontrollgruppe

Im Normalkollektiv, das sich aus gesunden Mitarbeitern der Universitätsklinik Düsseldorf zusammensetzte, schwankten die Aktivitäten der P5'N zwischen 1,10 und 2,59 µMol Cytidin/h/g Hb mit einem Mittelwert ± Standardabweichung von 1,65 ± 0,45 µMol Cytidin/h/g Hb (Tab. 1, Abb. 1).

3.2. Ergebnisse im Nabelschnurblut

Im Nabelschnurblut gesunder reifer Neugeborener wurden P5'N-Werte zwischen 1,14 und 3,87 µMol Cytidin/h/g Hb ermittelt. Der Mittelwert ± Standardabweichung betrug 2,40 ± 0,71 µMol Cytidin/h/g Hb (Tab. 2, Abb. 1).
Beim Vergleich mit dem Normalkollektiv ergaben sich signifikant höhere Werte ($p = 0,0006$).

3.3. Ergebnisse bei niereninsuffizienten Patienten im Stadium der kompensierten Retention

Im Hämolysat dieser nicht dialysepflichtigen Patientengruppe lagen die Werte der P5'N-Aktivität zwischen 1,83 und 5,47 µMol Cytidin/h/g Hb bei einem Mittelwert ± Standardabweichung von 3,28 ± 1,20 µMol Cytidin/h/g Hb (Tab. 3, Abb. 1).
Die Werte liegen höher als im Normalkollektiv, das Signifikanzniveau ist 0,0007.

3.4. Ergebnisse bei Dialysepatienten

Diese Patienten mit chronischer terminaler Niereninsuffizienz befanden sich in ständiger Dialysebehandlung. Ihre P5'N-Aktivitäten schwankten zwischen 2,70 und 7,84 µMol Cytidin/h/g Hb. Der Mittelwert ± Standardabweichung beträgt 4,93 ± 1,86 µMol Cytidin/h/g Hb (Tab. 4, Abb. 1).
Die Unterschiede zum Normalkollektiv sind hochsignifikant ($p = 0,0$). Im Vergleich mit der Gruppe der chronisch niereninsuffizienten Patienten im Stadium der kompensierten Retention zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,044$).

Tabelle 1

Normalwerte der P5'N-Aktivität

Die Bestimmung wurde im Hämolysat gesunder Probanden durchgeführt. Die Inkubation erfolgte mit 5 mmol CMP, 4,2 mmol $MgCl_2$, 16,7 mmol Tris-HCl-Puffer, pH 8,0, 0,25 µCi [5-^{3}H]-Cytidin-5'-Monophosphat sowie 0,1 ml Hämolysat (= ca. 18 mg Hb). Das Volumen des Ansatzes betrug 0,6 ml, die Inkubationszeit 90 min bei 37°C.

Kontrollpersonen	P5'N-Aktivität
	uMol Cytidin/h/g Hb
1	1,61
2	1,27
3	1,10
4	1,31
5	1,70
6	1,27
7	1,93
8	2,42
9	1,86
10	1,41
11	1,50
12	1,29
13	1,31
14	1,87
15	1,30
16	2,12
17	2,69
$\bar{x} \pm$ SD	1,65 ± 0,45

Tabelle 2

P5'N-Aktivität im Nabelschnurblut

Die Bestimmung wurde im Hämolysat gesunder reifer Neugeborener durchgeführt. Die Inkubation erfolgte mit 5 mmol CMP, 4,2 mmol $MgCl_2$, 16,7 mmol Tris-HCl-Puffer, pH 8,0, 0,25 µCi [5-^{3}H]-Cytidin-5'-Monophosphat sowie 0,1 ml Hämolysat (= ca. 18 mg Hb). Das Volumen des Ansatzes betrug 0,6 ml, die Inkubationszeit 90 min bei 37°C.

Nabelschnurblut	P5'N-Aktivität
	µMol Cytidin/h/g Hb
1	2,34
2	2,18
3	2,52
4	2,12
5	1,64
6	1,30
7	3,87
8	1,60
9	2,31
10	1,99
11	2,03
12	1,72
13	1,14
14	1,83
15	2,73
16	2,73
17	2,59
18	3,14
19	1,77
20	3,48
21	2,91
22	2,85
23	3,60
24	2,94
25	2,55
$\bar{x} \pm SD$	2,40 ± 0,71

Tabelle 3

P5'N-Aktivität bei niereninsuffizienten Patienten im Stadium der kompensierten Retention

Die Bestimmung wurde im Hämolysat nicht dialysepflichtiger niereninsuffizienter Patienten durchgeführt. Die Inkubation erfolgte mit 5 mmol CMP, 4,2 mmol $MgCl_2$, 16,7 mmol Tris-HCl-Puffer, pH 8,0, 0,25 µCi [5-^{3}H]-Cytidin-5'-Monophosphat sowie 0,1 ml Hämolysat (= ca. 18 mg Hb). Das Volumen des Ansatzes betrug 0,6 ml, die Inkubationszeit 90 min bei 37°C.

Patient	P5'N-Aktivität
	µMol Cytidin/h/g Hb
1	4,06
2	1,83
3	3,61
4	3,05
5	2,27
6	3,75
7	2,19
8	5,47
$\bar{x} \pm$ SD	3,28 ± 1,20

Tabelle 4

P5'N-Aktivität bei terminal niereninsuffizienten Patienten

Die Bestimmung wurde im Hämolysat dialysepflichtiger, chronisch niereninsuffizienter Patienten durchgeführt. Die Inkubation erfolgte mit 5 mmol CMP, 4,2 mmol $MgCl_2$, 16,7 mmol Tris-HCl-Puffer, pH 8,0, 0,25 µCi [5-^{3}H]-Cytidin-5'-Monophosphat sowie 0,1 ml Hämolysat (= ca. 18 mg Hb). Das Volumen des Ansatzes betrug 0,6 ml, die Inkubationszeit 90 min bei 37°C.

Patient	P5'N-Aktivität
	µMol Cytidin/h/g Hb
1	2,78
2	3,75
3	2,70
4	3,94
5	6,77
6	6,64
7	6,22
8	4,21
9	3,96
10	7,84
11	6,84
12	7,09
13	2,87
14	3,36
$\bar{x} \pm$ SD	4,93 ± 1,86

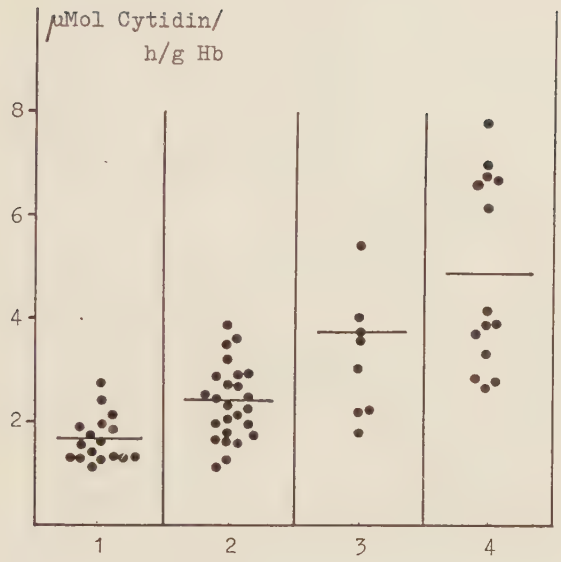

Abb. 1. P5'N-Aktivität im Hämolysat gesunder Probanden (1), im Nabelschnurblut (2), bei niereninsuffizienten Patienten im Stadium der kompensierten Retention (3) und bei Patienten mit dialysepflichtiger Niereninsuffizienz (4).

4. DISKUSSION

4.1. Werte der P5'N in der Literatur

Die Angaben über die Normwerte der P5'N in der Literatur schwanken beträchtlich. Dies hängt sicher auch damit zusammen, daß bis heute eine ganze Anzahl von Bestimmungsmethoden vorgeschlagen, aber noch kein standardisiertes Verfahren eingeführt wurde. Es gibt im wesentlichen drei Methoden, um nach der Inkubation die Menge des entstandenen Reaktionsproduktes zu messen:

1. Die Methode des Nachweises des freigesetzten Phosphats. Der Nachteil dieses Verfahrens liegt einmal darin, daß, um niedrige Leerwerte zu erzielen, eine 24stündige Dialyse des Hämolysates zur Entfernung anorganischen Phosphats notwendig ist. Zum anderen ist der Phosphatnachweis ein kompliziertes und nicht sehr sensitives Verfahren. Bei dem geringen Umsatz durch die P5'N benötigt man deswegen lange Inkubationszeiten, dies kann die Ergebnisse wegen der Wärmelabilität des Enzyms auch bei 37°C falsch niedrig erscheinen lassen. Nach dieser Methode wurden unter Verwendung von CMP als Substrat folgende Werte erhalten:

VALENTINE et al. (1974)	5,6	µM P/h/g Hb
MIWA et al. (1977)	10,56 - 14,24	µM P/h/g Hb
VIVES-CORRONS et al. (1976)	10,5 ± 1,8	µM P/h/g Hb
BUC et al. (1979)	5,54 ± 0,48	µM P/h/g Hb
PAGLIA und VALENTINE (1975)	5,5 ± 1,4	µM P/h/g Hb
PAGLIA et al. (1980)	6,2 ± 1,4	µM P/min/g Hb
	(= 372 ± 84	µM P/h/g Hb)

Die Angaben in Klammern geben die zur besseren Vergleichbarkeit umgerechneten Werte an.

2. Die Verwendung radioaktiv markierten Substrates und die Trennung von Substrat und Reaktionsprodukt nach der Inkubation. Dies kann geschehen durch

a) Zugabe von $ZnSO_4$ und $Ba(OH)_2$ in Konzentrationen, die das Löslichkeitsprodukt des entstehenden $BaSO_4$ überschreiten und es damit zur Präzipitation kommt. An $BaSO_4$ wird CMP adsorbiert und erscheint zu 98% im Niederschlag, während Cytidin vollständig im Überstand verbleibt (TORRANCE und WHITTACKER 1981). Die Methode ist einfacher und sensitiver, hat aber den Nachteil, daß UMP nicht als Substrat verwendet werden kann, da Uridin ebenfalls zu ca. 30% an $BaSO_4$ adsorbiert wird und präzipitiert. Außerdem kann dieses Verfahren nur in engen Nucleotid- und Salzkonzentrationen angewandt werden, es arbeitet nicht im Substratsättigungsbereich (BUC und KAPLAN 1978a). TORRANCE et al. (1977a) erhielten damit Werte von 152,2 $\pm$ 17,2 mU/g Hb, dieselben Proben nach der Phosphatmethode nach VALENTINE et al. (1974) bestimmt ergaben 148,2 $\pm$ 18,3 mU/g Hb (= 8,89 µM/h/g Hb). BEUTLER et al. (1980) geben demgegenüber einen Wert von 136 U/g Hb an (= 8,16 M Cytidin/h/g Hb). LIEBERMAN und GORDON-SMITH (1980), die diese Methode modifizierten, erhielten Werte von ca. 14 U/g Hb (= 0,84 M Cytidin/h/g Hb), der Mittelwert des Kontrollkollektivs der vorliegenden Untersuchung, die mit dieser Methode durchgeführt wurde, beträgt 1,65 $\pm$ 0,45 µM Cytidin/h/g Hb (= 27,5 $\pm$ 7,5 mU/g Hb).

b) BUC und KAPLAN (1978a) trennten UMP und Uridin mittels Papierchromatographie auf DEAE-Cellulose und 1 M Ammonium-Acetat pH 3,8 : 100% Äthanol im Verhältnis 3 : 7 als Laufmittel. Die Uridin- und UMP-Banden wurden nach der Chromatographie mit 0,1 M HCl ausgewaschen, die Radioaktivität gemessen. Dies gab Werte von 6,68 - 10,20 µMol Uridin/h/g Hb, diesel-

ben Proben nach der Methode von VALENTINE bestimmt 6,38 - 9,00 µMol P/h/g Hb, die Werte stimmen also gut überein.
Diese Methode wurde von ELLIMS et al. (1978) modifiziert, die Ergebnisse sind, da als Bezugsgröße mg Protein verwendet wird, mit den übrigen nicht zu vergleichen.

3. Von SAKAI et al. (1982) und ROCCO et al. (1982) wurde ein Verfahren beschrieben, bei dem die Trennung von UMP und Uridin durch Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie erfolgt. Die Methode hat den Vorteil, daß sie schnell durchgeführt werden kann und daß auf den Einsatz radioaktiv markierter Substanzen verzichtet werden kann. SAKAI fand dabei eine gute Übereinstimmung seiner Werte: 13,1 ± 1,40 µMol Uridin/h/g Hb mit denen, die er nach der Methode von VALENTINE erhielt: 13,5 ± 1,54 µMol P/h/g Hb.

Es fällt auf, daß von einigen Autoren bei der Bestimmung nach zwei verschiedenen Methoden übereinstimmende Werte gefunden wurden, andererseits von verschiedenen Autoren unter identischen Versuchsbedingungen Ergebnisse, die um das Mehrhundertfache voneinander abweichen.
Der Vergleich zwischen den nach unterschiedlichen Methoden erzielten Ergebnissen wird zusätzlich erschwert dadurch, daß bei verschiedenen pH-Werten inkubiert wird, was sicher auch mit der Unsicherheit über das pH-Optimum der P5'N zusammenhängt: VALENTINE et al. (1974): 7,5 - 8,0, PAGLIA und VALENTINE (1975a): 7,0 - 7,5, TORRANCE und WHITTACKER (1981): für UMP 6,75, für CMP 7,2. Der von PAGLIA und VALENTINE (1975a) beschriebene rapide Aktivitätsabfall bei pH-Werten oberhalb des pH-Optimums muß die Ergebnisse, die bei pH-Werten zwischen 7,6 (TORRANCE et al. 1977a) und 8,0 (LIEBERMAN und GORDON-SMITH 1980) be-

stimmt wurden, beeinflussen. Die Verfahren, die mit der Präzipitation von $BaSO_4$ arbeiten, laufen darüberhinaus nicht im Substratsättigungsbereich ab wie die übrigen, sondern etwa im Bereich der doppelten Konzentration der Michaeliskonstanten (BUC und KAPLAN 1978a).
Weitere Faktoren, die die Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Bestimmungsmethoden erschweren, sind

- Inkubationszeiten von 30 Minuten bis zu 2 Stunden. Bedingt durch die große Wärmelabilität der P5'N und die dadurch einsetzende Inaktivierung werden bei längeren Inkubationszeiten geringere Enzymaktivitäten bestimmt werden.
- Die Verwendung der beiden Substrate UMP und CMP. Die Aktivität der P5'N ist mit UMP ca. 20-30% höher als mit CMP.
- Die Inkubation bei verschiedenen $MgCl_2$-Konzentrationen und mit und ohne Zusatz von ß-Mercaptoäthanol.
- Die unterschiedliche Hämolysatherstellung.

Der Einfluß dieser Vielzahl von Variablen macht eine Aussage über Absolutwerte der P5'N momentan noch nahezu unmöglich und erlaubt Vergleiche bei pathologischen Zuständen nur mit den in der jeweiligen Untersuchung ermittelten Normalwerten.
Zu Beginn dieser Untersuchung wurde die Methode nach LIEBERMAN ausgewählt, weil sie unter den damals bekannten die einfachste zu sein schien. Wie die hiermit erhaltenen Normwerte im Hinblick auf die beschriebenen methodischen Schwierigkeiten zu werten sind bleibt offen.

4.2. Die P5'N im Nabelschnurblut

Die embryonale Blutbildung weist gegenüber derjenigen im späteren Leben einige Besonderheiten auf: sie beginnt ex-

tramedullär, zunächst im Mesenchym und vom 3. Fetalmonat an in der Leber und in geringerem Ausmaß in der Milz, ab dem 5. Fetalmonat wird sie zunehmend ins Knochenmark verlagert (PLENERT und HERMANN 1977, FRIEDERICI 1958). Zeitlich korreliert mit dem Wechsel der Blutbildungsorte werden auch 3 verschiedene Hämoglobine synthetisiert, die sich im Aufbau der nicht-α-Kette unterscheiden: das embryonale Hämoglobin (Gower 1 und 2), das fetale Hämoglobin (Hb F) und das adulte Hämoglobin (Hb A). Die Bildung eines Hämoglobins ist jedoch nicht an eine Blutbildungsstätte gebunden, der Übergang von einem zum anderen vollzieht sich vielmehr nach einem durch unbekannte Faktoren ausgelösten Reifungsmechanismus (BETKE 1971, KLEIHAUER 1966).

Die ersten, primitiven Erythroblasten sind kernhaltige, macrocytäre (bis 180 μm^3 MCV) Zellen, enthalten wenig Hb und besitzen eine Lebensdauer von 30 - 80 Tagen (THOMAS und YOFFEY 1962, BETKE 1971). Im Verlauf der weiteren Entwicklung werden sie den adulten Erythrocyten immer ähnlicher.

Zum Zeitpunkt der Geburt findet man folgende Werte: Erythrocyten 4,6 $\pm$ 0,5 Mio/μl, Hämatokrit 52,3 $\pm$ 5,3%, Hämoglobin 17,1 $\pm$ 1,78 g/dl, MCV 113 μm^3, MCH 36,9 pg, Retikulocyten 3 - 6% (STRAUSS und MAUER 1978). Die mittlere Lebensdauer der Erythrocyten der Perinatalperiode beträgt 45 - 70 Tage, wobei die Streuung sehr breit ist: viele Zellen werden bereits nach 20 - 30 Tagen abgebaut, andere erst nach 100 - 140 Tagen (BRATTEBY et al. 1968b, PEARSON 1967). Wie Transfusionsexperimente zeigten, ist diese Verkürzung der Lebensdauer korpuscul$\ddot{a}$r und nicht durch das umgebende Milieu bedingt (GILARDI und MIESCHER 1957, BRATTEBY et al. 1968a). Nach Berechnungen von BRATTEBY et al. (1968b) ist die relative Leistung der Erythropoese in den letzten Fetalwochen aufgrund der Größenzunahme des Feten und damit des circulierenden Blutvolumens, des Anstieges

der Erythrocytenzahl/µl und der verkürzten Lebensdauer der Erythrocyten 3 - 5mal so hoch wie beim Erwachsenen.

Weitere Unterschiede zwischen fetalen und adulten Erythrocyten bestehen in der Membranstruktur und -zusammensetzung und in der Enzymausstattung. So ist die Aktivität der meisten glycolytischen Enzyme erhöht, die der Phosphofructokinase jedoch erniedrigt. Der Glucoseverbrauch ist niedriger als bei einer Erythrocytenpopulation dieser Altersverteilung erwartet. Die GOT- und Glutathionreduktase-Aktivität ist erhöht, die der NADP-abhängigen Methämoglobinreduktase, Katalase und Glutathionperoxidase erniedrigt (OSKI 1973 und 1975, LESTAS et al. 1982). Einige dieser Charakteristika sind sicher nur auf den grossen Anteil junger Erythrocyten zurückzuführen. Die über das altersabhängige Maß hinaus erhöhte Aktivität einiger Enzyme, der relative Phosphofructokinasemangel, der Mangel an Glutathionperoxidase und Katalase sind aber Eigentümlichkeiten des fetalen Erythrocyten. Mit seinen enzymatischen und metabolischen Besonderheiten, seiner veränderten Membranstruktur und dem Hämoglobin F ist der fetale Erythrocyt an die Verhältnisse in utero zur Erfüllung seiner O_2-Transportfunktion optimal angepaßt. Einige seiner Eigenschaften stellen aber auch ein Handicap dar, wie z.B. der Mangel an reduzierenden Enzymen und die dadurch bedingte erhöhte Anfälligkeit gegenüber oxidativen Noxen und frühzeitiger Hämolyse.

Die Werte der P5'N-Aktivität im Nabelschnurblut liegen mit 2,4 $\pm$ 0,71 µM Cytidin/h/g Hb um ca. 50% oder 2 Standardabweichungen über den Normalwerten. Dies dürfte eher auf die verjüngte Erythrocytenpopulation als auf eine spezielle Eigenschaft des fetalen Erythrocyten zurückzuführen sein. Genaueren Aufschluß darüber könnten Untersuchungen an durch Dichtegradientenzentrifugation nach ihrem Alter getrennten adulten und fetalen Erythrocyten erbringen.

Angaben von erythrocytären Enzymaktivitäten, denen als Bezugsgröße das Hämoglobin dient, bergen dann einen Fehler in sich, wenn der Hämoglobingehalt der Erythrocyten von der Norm abweicht (CHAPMAN und SCHAUMBURG 1967, LESTAS et al. 1982). Die P5'N-Aktivität wird deshalb bei den hyperchromatischen fetalen Erythrocyten eher zu niedrig angegeben werden. Der entstehende Fehler ist jedoch nicht so wesentlich, daß er die Gültigkeit der obigen Aussage beeinträchtigt.

4.3. Werte bei Niereninsuffizienz

Die renale Anämie ist ein obligates Symptom bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, unabhängig von deren Ätiologie. Sie stellt ein schwerwiegendes klinisches Problem dar, da sie auch unter suffizienter Dialysetherapie persistiert. Es besteht eine lockere Korrelation zwischen dem Ausmaß der Niereninsuffizienz und dem Grad der Anämie, die erst bei einer Einschränkung der Nierenfunktion unter 25-30% auftritt und zu Hämoglobinwerten zwischen 5 und 10 g% führt (BLUMBERG 1972). Nach übereinstimmender Meinung aller Autoren (KELLER 1968, BLUMBERG 1972, NAETS 1975, ERSLEV 1977, SCHNURR 1979) setzt sie sich aus mehreren Komponenten zusammen: einer verminderten Produktion roter Blutzellen, einer frühzeitigen, verstärkten Hämolyse und Blutverlusten.
Die Hyporegeneration ist überwiegend auf eine fehlende Produktion und damit Stimulation des Knochenmarks durch das in der Niere gebildete Erythropoetin zurückzuführen. Die Plasmaerythropoetinspiegel liegen bei chronisch niereninsuffizienten Patienten im Bereich gesunder Normalpersonen, während sie bei Nierengesunden mit ähnlich ausgeprägter Anämie auf das 30fache erhöht sein können (SCHULZ 1975). Die Tatsache, daß die Erythropoese urämi-

scher Patienten auf einen hypoxischen Stimulus hin - wenn auch weniger als beim Gesunden - ansteigt und daß die Anämie sich nach Nephrektomie weiter verschlimmert, spricht für eine Resterythropoetinbildung auch in stark geschädigten Nieren. Die verminderte Erythropoetinproduktion wird durch einen verlangsamten Erythropoetinkatabolismus teilweise kompensiert (NAETS 1975). Die Existenz eines in der Urämie im Serum vorkommenden Erythropoetininhibitors ist umstritten.

Sicher scheint dagegen eine Knochenmarkdepression durch in der Urämie retinierte Substanzen (WALLNER und VAUTRIN 1981, BRUNNER 1976). Welche der vielen als "Urämietoxine" bezeichneten Substanzgruppen (Phenole, phenolische Säuren, aliphatische Amine, Guanidino-Verbindungen und die sogenannten Mittelmoleküle) knochenmarktoxisch wirken, läßt sich nicht genau sagen.

Die Überlebenszeit der Erythrocyten ist in der Urämie meist auf 1/3 - 1/2 der Norm verkürzt, YAWATA et al. (1973) beobachteten bei einzelnen Patienten jedoch auch normale Werte. Kreuztransfusions- und -inkubationsversuche weisen darauf hin, daß vorwiegend extracorpusculäre Faktoren hierfür verantwortlich sind (WARDLE 1970). Auch hier läßt sich die Bedeutung einzelner Urämietoxine, der renalen Acidose und ihr Zusammenwirken nicht abschätzen. Bei einigen speziellen Nierenerkrankungen, die mit microangiopathischen Veränderungen einhergehen, wie z.B. die maligne Hypertonie, kann eine zusätzliche mechanische Schädigung der Erythrocyten auftreten, die ihre Lebenszeit verkürzt.

Die Mitteilungen verschiedener Autoren über den Glucosemetabolismus in den Erythrocyten chronisch niereninsuffizienter Patienten sind unterschiedlich. BOCK et al. (1962) fanden eine Verminderung der Hexokinaseaktivität im Nativblut von Urämikern. DITTRICH (1962) und WALLAS (1974) beschreiben dagegen erhöhte Aktivitäten der Hexokinase, der

Pyruvatkinase, der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und der GOT, daneben eine normale Aktivität der Phosphoglyceratkinase. Dies entspricht dem Verteilungsmuster einer verjüngten Erythrocytenpopulation. YAWATA et al. (1973) beobachteten eine Verminderung der Aktivität des Hexosemonophosphatshunts, die nicht auf der verminderten Aktivität der G6PD beruht, sondern auf einem Defekt in der Reutilisation der Pentosen, möglicherweise einem Transketolasemangel. Dieser nur bei manchen Patienten bestehende Defekt kann in seinen Auswirkungen durch oxidierende Medikamente (wie z.B. Sulfonamide oder Primaquin) und Dialyse gegen NH_2Cl-haltiges Leitungswasser verstärkt und die Hämolyse verschlimmert werden.

EGGERT et al. (1981) fanden keinen Unterschied im Verhalten der Enzymaktivitäten während der Erythrocytenalterung zwischen normalen und urämischen Erythrocyten: die PFK-Aktivität bleibt unverändert, die G6PD-Aktivität nimmt ab. Da jedoch die Erythrocyten-Lebenszeit in der Urämie verkürzt ist, ist der Abfall pro Zeiteinheit größer als bei Gesunden. Auch STEWART (1967) schließt aus dem linearen Abfall der Erythrocytenüberlebenskurven, daß die Hämolyse bei renaler Anämie das Ergebnis einer frühzeitigen Erythrocytenalterung ist. DITTRICH (1962) vermutet als Ursache der Produktion minder lebensfähiger Erythrocyten eine durch toxische Knochenmarkschädigung ausgelöste Reifungsstörung.

Bei einer Reihe weiterer Faktoren wird eine hämolysefördernde Wirkung vermutet, so bei Veränderungen der intracellulären ATP-Konzentration, der Membran-ATPase, des Gesamtphospholipidgehaltes und des Verhältnisses der verschiedenen Phospholipide (EGGERT und BLEIBER 1980) und bei Elektrolytverschiebungen. Definitives läßt sich über ihre Bedeutung noch nicht sagen.

Die Hämolyse ist sicher nicht die Hauptursache der renalen Anämie, da nierengesunde Patienten mit hämolytischen

Anämien desselben und größeren Ausmaßes diese gut kompensieren können. Der quantitative Beitrag der hyporegeneratorischen und der hämolytischen Komponente ist zudem von Patient zu Patient unterschiedlich (ADAMSON et al. 1968).

Als dritte Teilursache der renalen Anämie sind Blutverluste aufzuführen, die durch diagnostische Blutentnahmen, durch das Zurückbleiben von Blut im Dialysesystem, durch eine erhöhte Blutungsneigung - die durch eine urämische Thrombopathie zustande kommt und durch Dialysetherapie beseitigt werden kann - und durch okkulte Blutverluste über den Magen-Darm-Kanal bedingt werden. Auftretender Eisenmangel und megaloblastäre Anämien, die durch den Verlust dialysabler Folsäure entstehen, lassen sich durch Substitution beherrschen.

Die renale Anämie ist normochrom und normocytär, die Knochenmarkmorphologie entspricht der eines Gesunden. Die Retikulocytenzahl, die Erythrocyten-Lebenszeit, der Eisenumsatz in Plasma, Erythrocyten und Knochenmark schwanken zwischen erniedrigten, normalen und erhöhten Werten (ESCHBACH et al. 1967). Die Retikulocytenzahl, die sonst ein Index für die Erythrocytenproduktion ist, verliert ihre Validität bei höheren Harnstoffspiegeln (SHAW und SCHOLES 1967).

Nach 1-2jähriger Dialysebehandlung ist meist eine Besserung der Anämie mit einem Anstieg des Hämatokrit festzustellen. Da die Erythrocytenlebenszeit unverändert bleibt (ESCHBACH et al. 1967) und eine Besserung der Nierenfunktion und damit gesteigerte Produktion von Erythropoetin unwahrscheinlich ist, wird diese Adaptation von den meisten Autoren (ADAMSON et al. 1968, LAURENT et al. 1974) auf eine gesteigerte extrarenale Erythropoetinbildung und/oder die Entfernung eines Erythropoetininhibitors zurückgeführt.

Bei der Betrachtung der P5'N-Werte bei Niereninsuffizienz fällt zunächst deren breite Streuung auf. Diese ist bei

der renalen Anämie auch bei anderen hämatologischen Parametern wie der Retikulocytenzahl und der Erythrocyten-Lebenszeit zu beobachten (ESCHBACH et al. 1967). Da die P5'N-Aktivität mit zunehmendem Alter des Erythrocyten abnimmt, wird sich eine Zunahme des Anteils junger Zellen in einem Anstieg der Enzymaktivität widerspiegeln. Je mehr Zellen pro Zeiteinheit zugrunde gehen, umso jünger wird die Gesamtpopulation. Eine gesteigerte Hämolyse fand STEWART (1967) immer dann, wenn die Urämie sich verschlechterte, was er am Harnstoff-Spiegel im Plasma maß. Schwankungen in den Retentionswerten und die schon erwähnte unterschiedliche Wertigkeit der hyporegeneratorischen und hämolytischen Komponente bei verschiedenen Patienten führen dazu, daß es sich bei chronisch Niereninsuffizienten um eine hinsichtlich ihres Erythrocytenumsatzes sehr heterogene Patientengruppe handelt. Dies mag die weite Streuung erklären.

Die Aktivität der P5'N ist bei Patienten mit dialysepflichtiger und nichtdialysepflichtiger Niereninsuffizienz gegenüber dem Normalkollektiv signifikant erhöht, zwischen den beiden Gruppen besteht kein signifikanter Unterschied. Die Aktivitätszunahme läßt sich generell durch die verjüngte Erythrocytenpopulation erklären. Da die höchsten Werte jedoch deutlich über denen im Nabelschnurblut, das sich auch durch einen hohen Anteil junger Zellen auszeichnet, liegen, ist es fraglich, ob dies die einzige Ursache ist. Möglicherweise findet ein zusätzlicher Umsatz von CMP durch eine unspezifische Phosphatase statt, die nach der Auffassung von BUC et al. (1979) auch für die Restaktivität bei erblichem P5'N-Mangel verantwortlich sein könnte.

Die Ergebnisse, die im gepufferten Milieu des Versuchsansatzes erhalten wurden, schließen eine funktionelle Enzyminhibition im urämischen Plasma nicht aus. Da es sich offensichtlich nicht um eine irreversible, strukturelle

Enzymalteration handelt, scheint eine Störung im Pyrimidinnucleotid-Stoffwechsel nicht ursächlich an der verstärkten Hämolyse bei renaler Anämie beteiligt zu sein.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Pyrimidin 5'-Nucleotidase, deren verminderte Aktivität bei erblichem Enzymmangel und bei Bleivergiftung zu einer verstärkten Hämolyse führt, wurde in den Erythrocyten von gesunden Kontrollpersonen, im Nabelschnurblut und bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz bestimmt.

Die Ergebnisse betragen 1,65 ± 0,45 µMol Cytidin/h/g Hb im Kontrollkollektiv, 2,40 ± 0,71 µMol Cytidin/h/g Hb im Nabelschnurblut und 3,28 ± 1,20 µMol Cytidin/h/g Hb bzw. 4,93 ± 1,86 µMol Cytidin/h/g Hb im Blut von Patienten mit nichtdialysepflichtiger bzw. dialysepflichtiger Niereninsuffizienz. Die Werte im Nabelschnurblut und bei Niereninsuffizienz liegen signifikant höher als im Kontrollkollektiv, zwischen den beiden Patientengruppen mit renaler Anämie besteht kein signifikanter Unterschied. Ein Vergleich der Normalwerte mit den in der Literatur angegebenen ist aufgrund zahlreicher verschiedener Bestimmungsmethoden und stark divergierender Ergebnisse nicht möglich. Die erhöhten Werte in fetalen Erythrocyten und bei renaler Anämie sind am ehesten auf die in beiden Fällen verjüngte Erythrocytenpopulation zurückzuführen, da die P5'N ein in seiner Aktivität vom Erythrocytenalter abhängiges Enzym ist.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ADAMSON, J.W., J.W. ESCHBACH, C.A. FINCH: The kidney and erythropoesis. Am. J. Med. 44: 725-733 (1968)

ALBAHARY, C.: Lead and hemopoiesis. The mechanism and consequence of the erythropathy of occupational lead poisoning. Am. J. Med. 52: 367-378 (1972)

ANGLE, C.R., M.S. MCINTIRE: Low level lead and inhibition of erythrocyte pyrimidine nucleotidase. Environ. Res. 17: 296-302 (1978)

BEN-BASSAT, I., F. BROK-SIMONI, G. KENDE, F. HOLTZMANN, B. RAMOT: A family with red cell pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. Blood 47: 919-922 (1976)

BEUTLER, E.: Red cell enzyme defects as nondiseases and as diseases. Blood 54: 1-7 (1979)

BEUTLER, E., P.V. BARANKO, F. FEAGLER, F. MATSUMOTO, M. MIRO-QUESDADA, G. SELBY, P. SINGH: Hemolytic anemia due to pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency: report of eight cases in six families. Blood 56: 251-255 (1980)

BETKE, K.: Fötale und postnatale Erythropoese und ihre Störungen. Pädiat. Fortbildk. Praxis 31: 1-18 (1971)

BLUMBERG, A.: Die renale Anämie. Bern, Huber (1972)

BOCK, H.E., W. LÖHR, H.D. WALLER: Beitrag zur Genese renaler Anämien. Schweiz. Med. Wschr. 92: 1213-1219 (1962)

BONINSEGNA, A., R. DEANA. D. SILIPRANDI: The localization of enzymatic activities involved in uridine nucleotides reactions in human erythrocytes. J. Cell. Physiol. 83: 53-57 (1974)

BRATTEBY, L.E., L. GARBY, B. WADMAN: Studies on erythrokinetics in infancy. XII Survival in adult recipients of cord blood red cells labelled in vitro with di-isopropyl fluorophosphonate. Acta paediat. scand. 57: 305-310 (1968a)

BRATTEBY, L.E., L. GARBY, T. GROTH, W. SCHNEIDER, B. WADMAN: Studies on erythrokinetics in infancy. XIII The mean life span and the life span frequency function of red blood cells formed during foetal life. Acta paediat. scand. 57: 311-320 (1968b)

BROK, F., B. RAMOT, E. ZWANG, D. DANON: Enzyme activities in human red blood cells of different age groups. Israel. J. Med. Sci. 2: 291-296 (1966)

BRUNNER, H., A. BRUNNER, U. ESSERS, R. HEINTZ: Inhibition of bone marrow cell proliferation by undialysable fractions from human urine. In: Renal Insufficiency: Würzburg Symposion Nov. 74, hrsg. v. Heidland, A., H. Hennemann, J. Kult. Stuttgart, Thieme (1976)

BUC, H.A., J.C. KAPLAN: A radioassay for pyrimidine 5'-nucleotidase activity. Clin. Chim. Acta 85: 193-196 (1978a)

BUC, H.A., J.C. KAPLAN: Red cell pyrimidine 5'-nucleotidase and lead poisoning. Clin. Chim. Acta 87: 49-55 (1978b)

BUC, H.A., J.C. KAPLAN, A. NAJMAN: Study of a case with severe red cell pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. Clin. Chim. Acta 95: 83-88 (1979)

CHAPMAN, R.G., L. SCHAUMBURG: Glycolysis and glycolytic enzyme activity of aging red cells in man. Brit. J. Haemat. 13: 665-678 (1967)

DITTRICH, P.v.: Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase in den Erythrocyten bei nephrogenen Anämien. Klin. Wschr. 40: 1075-1076 (1962)

EGGERT, W., R. BLEIBER: Der Einfluß der chronischen Niereninsuffizienz auf die Lipide des Plasmas und der roten Blutzellen von Kindern. Kinderärztl. Prax. 48: 527-531 (1980)

EGGERT, W., P. SCIGALLA, J. GROSS: Changes in glucose-6-phosphate dehydrogenase and phosphofructokinase activity during maturation and ageing of red blood cells in children with chronic renal insufficiency. Acta haemat. 65: 164-169 (1981)

ELLIMS, P.H., L. BAILEY, M.B. VAN DER WEYDEN: An improved method for the determination of human erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase activity. Clin. Chim. Acta 88: 99-103 (1978)

ERSLEV, A.J.: Anemia of chronic renal failure. In: Hematology, hrsg. v. Williams, W.J., E. Beutler, A.J. Erslev, R.W. Rundles. New York, Mc Graw-Hill, 2. Aufl. (1977)

ESCHBACH, J.W., D. FUNK, J. ADAMSON, I. KUHN, B.H. SCRIBNER, C.A. FINCH: Erythropoesis in patients with renal failure undergoing chronic dialysis. New Engl. J. Med. 276: 653-658 (1967)

FRIEDERICI, L.: Der Erythrocyt. Seine Morphologie, Physiologie und Pathologie. Heidelberg, Hüthig (1958)

FUJII, H., K. NAKASHIMA, S. MIWA, K. NOMURA: Electrophoretic and kinetic studies of a mutant red cell pyrimidine 5'-nucleotidase. Clin. Chim. Acta 95: 89-92 (1979a)

FUJII, H.: A role of red cell pyrimidine 5'-nucleotidase in experimental lead poisoning. Arch. Toxicol. 43: 59-64 (1979b)

GARBY, L., S. SJOLIN, J.C. VUILLE: Studies on erythrokinetics in infancy. V Estimation of the life span of red cells in the newborn. Acta paediat. 53: 165-171 (1964)

GEORGE, J.W., J.R. DUNCAN: Pyrimidine-specific 5'-nucleotidase activity in bovine erythrocytes: Effect of phlebotomy and lead poisoning. Am. J. Vet. Res. 43: 17-20 (1982)

GILARDI, A., P. MIESCHER: Die Lebensdauer von autologen und homologen Erythrocyten bei Frühgeborenen und älteren Kindern. Schweiz. Med. Wschr. 87: 1456-1459 (1957)

HARLEY, E.H.: Erythrocyte pyrimidine metabolism in pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. In: Monogr. hum. Genet. Vol. 10, hrsg. v. Beckman, L., M. Hauge. Basel, Karger (1978)

HARLEY, E.H., A. HEATON, W. WICOMB: Pyrimidine metabolism in hereditary erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. Metabolism 27: 1743-1754 (1978)

ISHIDA, Y., M. SHIRO, Y. MIURA, A. KIBE: Electrophoretic and kinetic studies of human erythrocytes deficient in pyrimidine 5'-nucleotidase. Clin. Chim. Acta 108: 285-291 (1980)

JENSEN, W.N., G.D. MORENO, M.C. BESSIS: An electron microscopic description of basophilic stippling in red cells. Blood 25: 933-943 (1965)

KELLER, H.M.: Veränderungen des roten Blutbildes bei Nierenkrankheiten. In: Handbuch der Inneren Medizin, hrsg. v. H. Schwiegk, 5. Aufl., Bd. 8,2. Berlin, Springer (1968)

KESSLER, L.: Basophil getüpfelte Erythrocyten und Krankheit. Inaugural-Dissertation, Leipzig (1959)

KLEIHAUER, E.: Fetales Hämoglobin und fetale Erythrocyten. Stuttgart, Enke (1966)

LAURENT, C., M. WITTEK, P. VEREERSTRAETEN, C. TOUSSAINT, J.P. NAETS: Red cell life span, splenic sequestration and transfusion requirements in chronic renal failure treated by hemodialysis. Effects of bilateral nephrectomy. Clin. Neph. 2: 35-40 (1974)

LESTAS, A.N., C.H. RODECK, J.M. WHITE: Normal activities of glycolytic enzymes in the fetal erythrocytes. Brit. J. Haemat. 50: 439-444 (1982)

LIEBERMAN, J.E., E.C. GORDON-SMITH: Red cell pyrimidine 5'-nucleotidase and glutathione in myeloproliferative and lymphoproliferative disorders. Brit. J. Haemat. 44: 425-430 (1980)

MIWA, S., K. NAKASHIMA, H. FUJII, M. MATSUMOTO, K. NOMURA: Three cases of hereditary hemolytic anemia with pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency in a japanese family. Hum. Genet. 37: 361-364 (1977)

MIWA, S.: Studies on pyruvate kinase deficiency, pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency and adenosine deaminase overproduction. Acta biol. med. germ. 40: 543-546 (1981)

NAETS, J.P.: Hematologic disorders in renal failure. Nephron 14: 181-194 (1975)

ODA, S., K.R. TANAKA: Metabolic studies in erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. Clin. Res. 24: 149a (1976)

OSKI, F.A.: The unique fetal red cell and its function. Pediatrics 51: 494-500 (1973)

OSKI, F.A., M. KOMAZAWA: Metabolism of the erythrocytes of the newborn infant. Semin. Hematol. 12: 209-221 (1975)

OZSOYLU, S., A. GURGEY: A case of hemolytic anemia due to erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. Acta haemat. 66: 56-58 (1981)

PAGLIA, D.E., W.N. VALENTINE: Characteristics of a pyrimidine-specific 5'-nucleotidase in human erythrocytes. J. Biol. Chem. 250: 7973-7979 (1975a)

PAGLIA, D.E., W.N. VALENTINE, J.G. DAHLGREN: Effects of low-level lead exposure on pyrimidine 5'-nucleotidase and other erythrocyte enzymes. J. Clin. Invest. 56: 1164-1169 (1975b)

PAGLIA, D.E., W.N. VALENTINE, K. FINK: Lead poisoning. Further observations on erythrocyte pyrimidine nucleotidase deficiency and intracellular accumulation of pyrimidine nucleotides. J. Clin. Invest. 60: 1362-1366 (1977)

PAGLIA, D.E., K.FINK, W.N. VALENTINE: Additional data from two kindreds with genetically induced deficiencies of erythrocyte pyrimidine nucleotidase. Acta haemat. 63: 262-267 (1980)

PEARSON, J.A.: Life span of the fetal red blood cells. J. Pediatr. 70: 166-171 (1967)

PLENERT, W., J. HERMANN: Anämien im Kindesalter. Leipzig, Thieme (1977)

ROCCO, R.M., J.L. SMART, D.R. BROWN, J.B. BLUMBERG: HPLC analysis of erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase inhibition by lead. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 34: 127-136 (1981)

ROSA, R., H. ROCHANT, B. DREYFUS, C. VALENTIN, J. ROSA: Electrophoretic and kinetic studies of human erythrocytes deficient in pyrimidine 5'-nucleotidase. Hum. Genet. 38: 209-215 (1977a)

ROSA, R., C. VALENTIN, J. ROSA: Electrophoretic characterization of pyrimidine 5'-nucleotidase of human erythrocytes and its distinction from acid phosphatase. Clin. Chim. Acta 79: 115-118 (1977b)

SAKAI, T., S. YANAGIHARA, K. USHIDO: Determination of 5'-nucleotidase in human erythrocytes and plasma using high-performance liquid chromatography. J. Chromat. 239: 717-721 (1982)

SCHNURR, E.: Hämatologische Veränderungen bei chronischer Urämie. Dtsch. Med. Wschr. 104: 1678-1682 (1979)

SCHOLAR, E.M., P.R. BROWN, R.E. PARKS, P. CALABRESI: Nucleotide profiles of the formed elements of human blood determined by high-pressure liquid chromatography. Blood 41: 927-936 (1973)

SCHULZ, E.: Renale Anämie und Erythropoetin. In: Gerinnungsstörungen und Anämie bei Nierenerkrankungen, hrsg. v. W. Schulz und U. Gessler. München, Dustri (1975)

SHAW, A.B., M.C. SCHOLES: Reticulocytosis in renal failure. Lancet 1: 799-802 (1967)

SHINOHARA, K., K.R. TANAKA: Kinetic and electrophoretic studies of human erythrocytes deficient in pyrimidine 5'-nucleotidase. Hum. Genet. 51: 107-111 (1979)

STEWART, J.H.: Hemolytic anaemia in acute and chronic renal failure. Quart. J. Med. 36: 85-105 (1967)

STRAUSS, R.G., A.M. MAUER: Formed elements of human blood. In: Perinatal Physiology, hrsg. v. U. Stave, 2. Aufl. New York, Plenum (1978)

THOMAS, D.B., J.M. YOFFEY: Human foetal haemopoiesis. I The cellular composition of foetal blood. Brit. J. Haemat. 8: 290-295 (1962)

TOMODA, A., N.A. NOBLE, N.A. LACHANT, K.R. TANAKA: Hemolytic anemia in hereditary pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency: Nucleotide inhibition of G6PD and the pentose phosphate shunt. Blood 60: 1212-1218 (1982)

TOMOKUNI, K., M. OGATA: Comparative study of effects of lead on the activity of erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase and delta-aminolevulinate dehydratase in vivo and in vitro. Arch. Toxicol. 45: 197-201 (1980)

TORRANCE, J., C. WEST, E. BEUTLER: A simple rapid radiometric assay for pyrimidine 5'-nucleotidase. J. Lab. Clin. Med. 90: 563-568 (1977a)

TORRANCE, J.D., D. WHITTACKER, E. BEUTLER: Purification and properties of human erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74: 3701-3704 (1977b)

TORRANCE, J.D., C.D. KARABUS, M. SHNIER, M. METZLER, J. KATZ, T. JENKINS: Haemolytic anaemia due to erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. Report of the first south african family. S. Afr. med. J. 52: 671-673 (1977c)

TORRANCE, J.D., D. WHITTACKER: Distribution of erythrocyte nucleotides in pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. Brit. J. Haemat. 43: 423-434 (1979)

TORRANCE, J.D., D. WHITTACKER, T. JENKINS: Erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase. Brit. J. Haemat. 45: 585-597 (1980)

TORRANCE, J.D., D.A. WHITTACKER: Some properties of human erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase. Enzyme 26: 64-73 (1981)

VALENTINE, W.N., K. FINK, D.E. PAGLIA, S.R. HARRIS, W.S. ADAMS: Hereditary hemolytic anemia with human erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency. J. Clin. Invest. 54: 866-879 (1974)

VALENTINE, W.N.: Enzyme abnormalities in red cells. Brit. J. Haemat. 31 (Suppl.): 11-19 (1975)

VALENTINE, W.N., D.E. PAGLIA, K. FINK, G. MADOKORO: Lead poisoning. Association with hemolytic anemia, basophilic stippling, erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency and intraerythrocytic accumulation of pyrimidines. J. Clin. Invest. 58: 926-932 (1976)

VALENTINE, W.N., D.E. PAGLIA: Deficient activity of pyrimidine 5'-nucleotidase in association with hereditary hemolytic anemia. In: Topics in Hematology, hrsg. v. S. Seno, F. Takaku, S. Irino. Amsterdam, Excerpta Medica (1977)

VIVES-CORRONS, J.E., E. MONTSERRAT-COSTA, C. ROZMAN: Hereditary hemolytic anemia with erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency in Spain. Hum. Genet. 34: 285-292 (1976)

WALLAS, C.H.: Metabolic studies on red cells from patients with chronic renal disease. Brit. J. Haemat. 26: 71-78 (1974)

WALLNER, S.F., R.M. VAUTRIN: Evidence that inhibition of erythropoesis is important in the anemia of chronic renal failure. J. Lab. Clin. Med. 97: 170-178 (1981)

WARDLE, E.N.: Study of the effects of possible toxic metabolites of uraemia on red cell metabolism. Acta haemat. 43: 129-143 (1970)

YAWATA, Y., R. HOWE, H.S. JACOB: Abnormal red cell metabolism causing hemolysis in uremia. Ann. Int. Med. 79: 362-367 (1973)

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Prof. Dr. W. Schneider für die Überlassung des Themas sowie die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit

Frau E. Freiberger für ihre Hilfe bei der Durchführung der praktischen Arbeiten

Herrn Prof. Dr. H. Bojar und den Mitarbeitern im Institut für Onkologische Biochemie, die mir durch ihre Hilfsbereitschaft die Messung der Radioaktivität ermöglichten.

LEBENSLAUF

Am 16.10.1955 wurde ich, Ingrid Och, als zweites Kind des Arztes Dr. Herbert Och und seiner Frau Irmgard, geb. Sauler, in Bayreuth geboren.

1962-1966 Besuch der ev. Pestalozzi-Volksschule in Koblenz

1966-1974 Besuch des Staatl. Görres-Gymnasiums in Koblenz, Abitur am neusprachlichen Zweig

1974-1976 Studium der Biologie an den Universitäten Giessen und Bonn

1976-1978 Vorklinisches Studium an der Universität Frankfurt/M.
Ärztliche Vorprüfung März 78

1978-1982 Klinisches Studium an der Universität Düsseldorf, Praktisches Jahr an der Universitätsklinik Düsseldorf
Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung Oktober 82

Die Approbation wurde mir am 15.11.82 erteilt.

Düsseldorf, 22.04.83

FOTODRUCK J. MAINZ GmbH
Neupforte 13, Nähe Markt, D-5100 Aachen
Telefon: (0241) 27305 und (0241) 38606